Ueber die Bedeutung der gleichzeitigen Tuschespeicherung bei der experimentellen Erzeugung von Amyloid bei Mäusen.

Verfasser:
Cornelius Büchler.

Referent:
Professor Dr. Letterer.

1936.

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg.
(Seinerzeitiger Vorstand Geh. Rat Prof. Dr. M. B. Schmidt.)

Ueber die Bedeutung der gleichzeitigen Tuschespeicherung bei der experimentellen Erzeugung von Amyloid bei Mäusen.

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Bayer. Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Cornelius Büchler

aus Ebersbach.

J. V. Bauner's Buchdruckerei, Inh. Ludwig Bauner, Mellrichstadt
1936.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät.

Referent:
Professor Dr. Letterer.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549802_0047

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet.

Ueber die Bedeutung der gleichzeitigen Tuschespeicherung bei der experimentellen Erzeugung von Amyloid bei Mäusen.

Die Ansicht, die Amyloidbildung als einen Präzipitationsvorgang auf Grund einer Antigen-Antikörperreaktion zu betrachten, wie dies schon von Letterer als Resultat seiner experimentellen Untersuchungen ausgesprochen, von Loeschcke durch Reaktionen in vitro gezeigt wurde, gewann in den letzten Jahren mehr und mehr an Boden. Damit mußte man folgerichtig das retikuloendotheliale System (R.E.S.) mit der Amyloidgenese in einen gewissen Zusammenhang bringen, da ja nach unseren derzeitigen Anschauungen das R.E.S. als eine Hauptbildungsstätte der Antikörper gilt. R. Jaffé berichtet nun über diesbezügliche Versuche von Desclin. Danach erkrankten von Mäusen, die einer amyloiderzeugenden Behandlung durch Caseininjektionen unterworfen wurden, 60%, also gegen zwei Drittel an Amyloid. Diese Zahl erhöhte sich auf 90% nach Speicherung mit Tusche. Diese Untersuchungen konnten naturgemäß zu der Annahme führen, daß mit einer Insuffizienz des R.E.S., experimentell hervorgerufen durch eine Blockierung durch parenterale Tuscheeinverleibung, die Fähigkeit entsprechende Antikörper zu erzeugen nachlasse bezw. ganz aufhöre und dadurch die Amyloidbildung begünstigt werde. Ohne näher auf die vielumstrittene Frage der Blockierung, d. h. Lähmung des R.E.S. einzugehen, sei doch so viel erwähnt, daß eine solche in dem zu fordernden Grad weder theoretisch denkbar noch praktisch erreichbar ist. (Siehe auch die eben erschienene Arbeit von Hesse.) Ferner lassen Arbeiten von Smetana, die denen von Desclin sehr ähnlich waren, es zweifelhaft erscheinen, ob obige Folgerung in diesem Umfang zu Recht besteht, denn nach seinen Angaben tritt

bei vorangegangener Tuschespeicherung von Mäusen eine Verzögerung der Amyloidbildung ein; also genau das Gegenteil der Resultate von Desclin. Auch hat Desclin in seinen Versuchen die mit Tusche gespritzten Mäuse nicht zur gleichen Zeit getötet wie die Kontrolltiere (ohne Tusche). Da aber R. H. Jaffé in seinen Arbeiten die grundsätzliche und ausschlaggebende Bedeutung der Behandlungsdauer bei amyloiderzeugenden Versuchen erwiesen hat, so erschien im Hinblick auf diese Frage, sowie auf die Ergebnisse von Smetana, eine nochmalige Ueberprüfung dieser Fragen notwendig.

Zu diesem Zweck wollte ich nach dem Vorgehen von Desclin die Tuscheeinverleibung durch intraperitoneale Injektionen erreichen. Dieser Weg erwies sich als unmöglich: Die Resorption der (verdünnten) Tusche war ungenügend und langwierig, sodaß die tatsächlichen Speicherungserfolge sehr wechselnd blieben.

Weit besser ist die intravenöse Tuscheverabreichung, da gleiche Mengen zu gleichen Speicherungserfolgen führen. Im ersten Versuch wählte ich eine Verdünnung der Tusche (von Günther-Wagner, Hannover) von 1 : 10 mit Kochsalzlösung. Im Abstand von 2—3 Tagen erhielten die weißen Mäuse 0,1—0,2 ccm in die Schwanzvene; gleichzeitig lief durchschnittlich 18 Tage die amyloiderzeugende Behandlung: jeden 2. Tag erhielten die weißen Mäuse subkutan in den Rücken 0,5 ccm 0,25% NaOH, der zur Verhütung allzu ausgedehnter Nekrosen Nuklein (Merck) in einer Menge von 2% hinzugesetzt worden war. Daneben wurde eine Kontrollreihe von Mäusen vom gleichen Stamm und bei gleicher Behandlung, aber ohne Tuschegabe angesetzt. Das Ergebnis zeigt Tabelle I und Ia.

Tabelle Ia: 10 Tiere, Amyloid + 2, Amyloid — 8.

	Versuchszeit	Gesamttusche 1 : 10	NaOH-Nuklein-Injekt.	Amyloid
1.	18	—	8	—
2.	18	—	8	Milz ++
3.	18	—	8	—
4.	18	—	8	—
5.	18	—	8	—
6.	18	—	8	Milz +
7.	18	—	8	—
8.	18	—	8	—
9.	18	—	8	—
10.	14	—	7	—

Tabelle I: 16 Tiere, Amyloid + 1, Amyloid — 15.

	Versuchs-zeit	Gesamt-tusche 1 : 10	NaOH-Nuklein-Injekt.	Amyloid
1.	18	0,3	8	Milz +
2.	11	0,3	5	—
3.	11	0,5	5	—
4.	17	0,5	8	—
5.	18	0,3	8	—
6.	18	0,5	8	—
7.	18	0,5	8	—
8.	18	0,5	8	—
9.	18	0,6	8	—
10.	18	0,6	8	—
11.	18	0,4	8	—
12.	18	0,4	8	—
13.	18	0,4	8	—
14.	18	0,4	8	—
15.	18	0,4	6	—
16.	18	0,4	8	—

Während Versuch I mit 16 Mäusen 1 Amyloidtier zeigte, hat Versuch Ia unter 10 Tieren 2 positive Tiere; ein verwertbarer Unterschied ist also nicht festzustellen. Da aber die Tuschelösung — abgesehen von einigen tödlichen Tuscheembolien — nicht zu einer entsprechend ausgedehnten Aufnahme im R.E.S., sondern nur zu einer massigen Ablagerung in dicken Klumpen in der Leber, hier besonders in den venae centrales, und in der Milz führte, was einerseits in dem Versuchsfehler der nicht immer frischen Verwendung der Lösung, andererseits in der zu starken Lösung liegen mochte, so wurde ein zweiter Versuch mit stets frischer Tuschelösung, diesmal in einer Verdünnung 1 : 20, angelegt.

Die geplante Versuchsdauer von 18 Tagen aber erlebten nur 3 Tiere (Protokollnummer 46, 47, 54) von den 13. Alle restigen starben früher. Soweit sie länger als 8 Tage im Versuch standen — das ist nämlich die kürzeste Zeit, innerhalb der ich bei einem Tier Amyloid beobachten konnte — habe ich sie in nachstehender Tabelle II angeführt. Auffallend ist der große Anteil an Amyloid, wobei ganz bemerkenswert bleibt, daß auch ein Tier (Protokollnummer 59), das mit Tusche intravenös zu spritzen mir nicht gelang, ebenfalls an Amyloid erkrankte. Die Tuschespeicherung in der Leber war gut. Es kam zu keiner Verstopfung der venae centrales. Einzig die Kupffer'schen Sternzellen waren in relativ großer Anzahl mit feinkörniger Tusche angefüllt und vollgestopft. Eine besondere Bevorzugung des zentralen oder peripheren Teiles eines Leberlappens konnte ich nicht feststellen. Was den Le-

berschnitt selbst anbelangt — ich wählte immer den gleichen Leberlappen – so war die Tusche über ihn ziemlich gleichmäßig verteilt. Bezüglich der Menge der gespeicherten Tusche glaubte ich je nach Menge der eingespritzten Tusche einen gewissen Unterschied feststellen zu können, im Gegensatz zur Milz. Hier war in allen Fällen verhältnismäßig wenig Tusche, vornehmlich nur in den Randpartien der Follikel zur Ablagerung gekommen. Die Teilchengröße war vielleicht noch etwas kleiner als in der Leber. Im großen und ganzen waren die Speicherungsbefunde bei den weiteren Versuchsreihen die gleichen.

Tabelle II: 7 Tiere, Amyloid + 6, Amyloid — 1.

	Protokollnummer	Versuchsdauer	Gesamttusche 1 : 20	NaOH-Nuklein-Injekt.	Amyloid
1.	46	18	0,6	12	Milz ++
2.	47	18	0,6	12	Milz +
3.	48	11	0,6	7	—
4.	49	9	0,4	6	Leber ++, Milz++
5.	50	8	0,4	5	Leber +, Milz +
6.	52	9	0,4	6	Leber +, Milz+++
7.	54	18	0,6	12	Milz ++
—	59	17	—	12	Leber+, Milz++

Die zahlreichen Verluste durch vorzeitigen Tod machten einen dritten Versuch nötig. Hier wurde die Versuchsdauer von vorneherein auf 12 Tage festgelegt. In dieser Zeit sollten die Mäuse 10 mal mit 0,5 ccm NaOH-Nukleinlösung subkutan und 2 mal mit 0,2 ccm Tusche 1 : 20 gespritzt werden. Das Ergebnis ist aus Tabelle III zu ersehen.

Tabelle IIIa: 10 Tiere, Amyloid + 0, Amyloid — 10.

	Versuchszeit	Gesamttusche 1 : 20	NaOH-Nuklein-Injekt.	Amyloid
1.	12	—	10	—
2.	12	—	10	—
3.	12	—	10	—
4.	12	—	10	—
5.	12	—	10	—
6.	12	—	10	—
7.	12	—	10	—
8.	12	—	10	—
9.	12	—	10	—
10	12	—	10	—

Tabelle III: 15 Tiere, Amyloid + 7, Amyloid — 8.

	Versuchszeit	Gesamttusche 1 : 20	NaOH-Nukleinlösung	Amyloid
1.	12	0,4	10	Milz +
2.	12	0,4	10	—
3.	11	0,4	9	—
4.	8	0,4	5	—
5.	10	0,2	8	Leber +
6.	12	0,4	10	—
7.	12	0,4	10	—
8.	12	0,4	10	Milz +
9.	12	0,4	10	—
10.	12	0,4	10	Milz +
11.	12	0,4	10	Milz +
12.	12	0,4	10	Milz +
13.	12	0,4	10	—
14.	12	0,4	10	Milz +
15.	12	0,4	10	—

Verglichen mit der Kontrollreihe IIIa scheint dieser Versuch III die Beobachtungen von Desclin zu bestätigen, insofern als tuschegespeicherte Tiere bis zu 50% Amyloid zeigten, während die Kontrolltiere gesund blieben.

Versuche anderer Art, die während der gleichen Zeit von Letterer ausgeführt wurden, haben aber den Gedanken nahegelegt, daß die Art des Futters bezw. dessen Qualität für den Erfolg einer amyloidkrankmachenden Behandlung von ausschlaggebender Bedeutung sei. Während nun die eine Reihe (III) ein qualitativ wesentlich schlechteres Futter in Form von Weißbrot, Hafer und Wasser erhalten hatte, war die Kontrollreihe aus äußeren Gründen mit sehr hochwertigem Futter (Körnermischfutter mit Fischabfällen) gehalten worden. Aus diesem Umstand nun erklärt sich die nur scheinbare amyloidbegünstigende Wirkung der Tuscheinjektionen, während sie in Wirklichkeit dem Futter zuzuschreiben ist. Der nächste Versuch gibt darüber noch weitere Auskunft.

Dieser entscheidenden Rolle, die u. U. das Futter bei der Amyloidentstehung spielt, muß gegebenenfalls weitgehendst Rechnung getragen werden. Außer den Untersuchungen Letterer's, den Cholesterin-Fettnahrungsversuchen von R. H. Jaffé, Klinge und Wacker, R. M. Mayer sprechen noch die neuesten Forschungen von Grayzel und Mitarbeitern an Hand eindeutiger Ergebnisse dafür, daß „lipoid- und vitaminarmes Futter bei entsprechender Grundkrankheit oder krankmachender Behandlung das Auftreten von Amy-

loidose bei Mäusen begünstigt und daß es gelingt durch gleichzeitigen Cholesterinzusatz zum Futter diese Amyloidose ganz oder teilweise zu verhindern" (cf. Letterer).

Es gelang dann in einem IV. und letzten Versuch mit 18 Mäusen, die mit Tusche gespeichert wurden, und 13 Kontrolltieren Klarheit zu schaffen. Alle Tiere waren durchaus einwandfrei und wurden besonders gehalten. Während im Versuch III und IIIa beide Reihen auch noch eine Paratyphus Breslau-Infektion hatten, die vielleicht auch nicht ohne Wirkung auf die Amyloiderkrankung, besonders bei Hinzutritt mangelhafter Nahrung, war, war die neue Reihe in jeder Hinsicht einwandfrei und die Versuchsbedingungen vollkommen gleichartig. Der eigentliche Versuch dauerte 12 Tage. Bereits 14 Tage früher, also für insgesamt 26 Tage, hatte ich alle Tiere auf Weißbrot-Wasser-Futter gesetzt, um die günstigsten Bedingungen für die Entstehung einer Amyloidose zu schaffen, um bei möglichst kurzer Versuchsdauer einen etwaigen Unterschied zwischen Kontroll- und Tuschetieren erdenklichst eindeutig zu schaffen. Zur Erzeugung von Amyloid erhielten alle Tiere in 12 Tagen jedes 10 mal 0,5 ccm Nuklein-NaOH-Lösung subkutan, die Tuschetiere außerdem jedes 3 mal 0,2 ccm Tuschelösung 1 : 20 intravenös. Das klare Ergebnis geht aus dem Vergleich der untenstehenden Tabellen IV und IVa hervor.

Tabelle IVa: 13 Tiere, Amyloid + 1, Amyloid — 12.

	Versuchszeit	Gesamttusche 1 : 20	NaOH-Nuklein-Injekt.	Amyloid
1.	12	—	10	—
2.	12	—	10	—
3.	12	—	10	—
4.	12	—	10	—
5.	12	—	10	—
6.	12	—	10	—
7.	12	—	10	—
8.	12	—	10	—
9.	12	—	10	—
10.	12	—	10	Milz +
11.	12	—	10	—
12.	12	—	10	—
13.	12	—	10	—

Tabelle IV: 18 Tiere, Amyloid + 2, Amyloid — 10.

	Versuchszeit	Gesamttusche 1 : 20	NaOH-Nuklein-Injekt.	Amyloid
1.	12	0,6	10	—
2.	12	0,6	10	—
3.	12	0,6	10	—
4.	12	0,6	10	—
5.	12	0,6	10	—
6.	12	0,6	10	—
7.	12	0,6	10	—
8.	12	0,6	10	—
9.	12	0,6	10	—
10.	12	0,6	10	—
11.	12	0,6	10	—
12.	12	0,6	10	—
13.	12	0,6	10	—
14.	12	0,6	10	—
15.	12	0,6	10	—
16.	12	0,6	10	—
17.	12	0,6	10	Milz ++
18.	12	0,6	10	Milz +

In der Reihe der 18 Tuschetiere trat zweimal, in der der 13 Kontrolltiere einmal Amyloid auf. Die tuschegespeicherten Mäuse zeigten also in keiner Weise eine erhöhte Neigung zur Amyloidose.

Dieses Ergebnis ist nicht das einzige, das in diesem Sinne spricht. So habe ich einleitend bereits Smetana erwähnt, der in 5 von 6 Versuchsreihen die Amyloidentstehung gegenüber nichtgespeicherten verzögert fand, also ein den Versuchen Desclin's gerade entgegengesetztes Resultat. Wenn auch vielfach an einen genetischen Zusammenhang zwischen R.E.S. und Amyloid geglaubt wurde (Domagk, Arndt, Pagel, R. Jaffé, Smetana), so ist doch daran festzuhalten, daß die Amyloidose eine im aktiven Mesenchym sich abspielende Krankheit, nicht aber eine Krankheit des R.E.S. im engeren oder weiteren Sinn ist. (Letterer.) So ist es nur erklärlich, daß Letterer auch nicht durch intravenöse Einverleibung von elektrokolloidalem Kupfer, das nach Jancsó das R.E.S. elektiv zerstört (Letterer), eine erhöhte Neigung zur Amyloidose nachweisen konnte, wie ihm auch sonst der experimentelle Beweis gelang, daß die Speicherung des R.E.S. für seine Funktionen ohne Bedeutung und auch die Präzipitinbildung durch elektrokolloidales Kupfer unbeeinflußbar bleibt.

Zusammenfassung: Es wird an Hand von Versuchen gezeigt, daß Mäuse nach Tuschespeicherung keine vermehrte Neigung zur Amyloidbildung haben.

Literatur-Nachweis:

Arndt: Verh. dtsch. path. Ges. 26. Tagg. **1931** 243.
München. tierärzt. Wschr. **1928** Num. 20.
Arch. Tierheilk. **63** (1931).

Desclin: Siehe bei Rudolf Jaffé.

Domagk und **v. Dobeneck:** Virch. Arch. **290,** 385 (1933).

Grayzel, Jacobi et al.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **28,** 172 (1930).

Grayzel et al.: Arch. of Path. 17, 50 (1934).

Jaffé, Richard, H.: Arch. of Path. a. Lab. Med. **1,** 25 (1926).
Arch. of Path. a. Labor. Med. **2,** 149 (1926).

Jaffé, Rudolf: Verh. dtsch. path. Ges. 26. Tagg. **1931,** 254.

Jancsó: Z. exper. Med. 64, H. 1/2 (1929).

Klinge u. Wacker: Krkhforsch. 1, 257 (1929).

Letterer: Beitr. path. Anat. **75** (1926).
Klin. Wschr. **1933** Num. 15; **1934.**
Z. exper. Med. **93** H. 1/2 (1934).
Virchows Arch. **293,** 34 (1934).

Letterer u. Geißendörfer: Verh. dtsch. path. Ges. 26 Tagg. **1931**
Virch. Arch. **285,** 385 (1932).

Loeschcke: Klin. Wschr. **1926** Num. 41.
Beitr. path. Anat. **77** (1927).

Mayer: Krkhforsch. **6,** 47 (1928).

Smetana: Bull. Hopkins Hosp. **37,** 389 (1925).
Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **24,** 187 (1926).

Hesse: Beitr. path. Anat. **93,** 36 (1934).

Lebenslauf.

Cornelius Büchler, geboren am 10. September 1909 zu Ebersbach im Spessart als Sohn des Volksschullehrers Otto Büchler und seiner Ehefrau Margarete, geb. Schüßler. Ich besuchte die Volkshauptschule von Heigenbrücken und Mainaschaff von 1916—1920, trat dann in das human. Gymnasium Aschaffenburg über, das ich nach bestandener Reifeprüfung im März 1929 verließ. Ich wandte mich sofort dem Studium der Medizin zu. Abgesehen von den Sommersemestern 1930, 1931 und 1932, die ich an den Universitäten München, Rostock und Wien hörte, war ich immer an der Universität Würzburg immatrikuliert. Hier bestand ich auch am Ende meines 11-semestrigen Studiums das medizinische Staatsexamen Januar 1935.

Ich versichere hiemit ehrenwörtlich, daß ich vorstehende Dissertation selbständig und ohne jede fremde Hilfsmittel verfaßt und auch keine anderen Quellen als die angegebenen benützt habe.

Cornelius Büchler.